



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Offenlegungsschrift
⑩ DE 44 18 097 A 1

⑥1 Int. Cl.⁶:
C 07 D 475/04
C 07 D 475/08
C 07 D 498/18
A 61 K 31/505
// (C07D 498/18,
239:00,241:00,263:00)

⑳ Aktenzeichen: P 44 18 097.7
㉔ Anmeldetag: 24. 5. 94
㉕ Offenlegungstag: 30. 11. 95

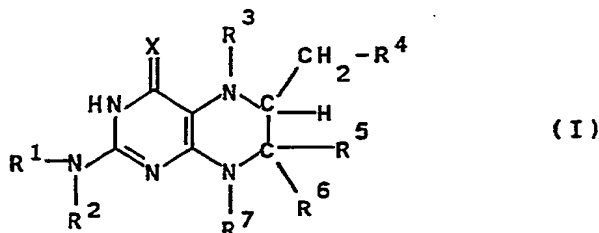
DE 44 18 097 A 1

㉑ Anmelder:
Cassella AG, 60386 Frankfurt, DE

㉒ Erfinder:
Pfleiderer, Wolfgang, Prof. Dr. Dr.hc, 78464
Konstanz, DE; Schmidt, Harald, Dr., 97337
Dettelbach, DE; Henning, Rainer, Dr., 65795
Hattersheim, DE

⑤4 Verwendung von Tetrahydropteridin-Derivaten als Hemmstoffe der NO-Synthase

⑤7 Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Pteridin-Derivaten der allgemeinen Formel I,



in der X für O oder NH steht und R⁴ z. B. für Wasserstoff, (C₁-C₄)-Alkylmercapto, den Rest -NR¹¹R¹² oder den Rest -OR¹³ steht und R¹, R², R³, R⁵, R⁶, R⁷, R¹¹, R¹² und R¹³ die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben, die Hemmstoffe der Stickstoffmonoxid-Synthase sind, zur Behandlung von Krankheiten, die durch einen erhöhten Stickstoffmonoxid-Spiegel bedingt sind.

DE 44 18 097 A 1

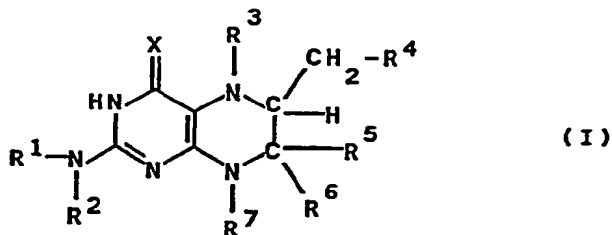
Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

BUNDESDRUCKEREI 10. 95 508 048/118

19/31

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft Pteridin-Derivate der allgemeinen Formel I,



die aufgrund ihrer Fähigkeit zur Modulation der körpereigenen Stickstoffmonoxid-Produktion wertvolle Arzneimittel zur Vorbeugung und Bekämpfung von Krankheitszuständen sind, die durch einen gestörten Stickstoffmonoxid-Spiegel gekennzeichnet sind.

Stickstoffmonoxid (NO) spielt in verschiedensten physiologischen Prozessen eine bedeutende Rolle (siehe z. B. R. Henning, Nachr. Chem. Tech. Lab. 41 (1993), 413; H. H. W. Schmidt et al., Biochim. Biophys. Acta 1178 (1993), 153).

Es wirkt z. B. relaxierend auf die glatte Gefäßmuskulatur und ist auf diese Weise maßgeblich an der Regulierung des Blutdrucks beteiligt, es steuert über eine Hemmung der Thrombocytenaggregation die Blutgerinnung, und es ist beispielsweise im Gehirn als Neurotransmitter in den Aufbau des Langzeitgedächtnisses involviert. In den NANC-Nerven des peripheren Nervensystems fungiert NO ebenfalls als Botenstoff. Die zelltoxische Wirkung des NO wird von Macrophagen für die Infektionsabwehr ausgenutzt.

Endogenes NO wird mit Hilfe mindestens drei verschiedener NO-Synthase-Isoenzyme aus Arginin gebildet (siehe z. B. J. F. Kerwin, Jr., M. Heller, Med. Res. Rev. 14 (1994), 23). Sie unterscheiden sich bezüglich ihrer Lokalisation im Organismus, ihrer Regulierbarkeit durch Ca^{2+} /Calmodulin sowie ihrer Induzierbarkeit durch Endotoxine und Cytokine. Die konstitutiven, calciumabhängigen NO-Synthasen finden sich beispielsweise in Endothel (Typ III) und im Gehirn (Typ I) und sind dort in die Regulation von Blutdruck und -gerinnung bzw. in Reizleitungsprozesse involviert. Die cytokin-induzierbare, calciumunabhängige Isoform (Typ II) tritt in Macrophagen, Glattmuskelzellen und Hepatocyten auf. Sie ist in der Lage, über einen langen Zeitraum relativ große Mengen NO zu produzieren und wird für entzündliche Prozesse und die zelltoxische Aktivität der Macrophagen verantwortlich gemacht.

Ein gestörter NO-Haushalt hat schwerwiegende Erkrankungen und Schädigungen zur Folge. So führt die exzessive Bildung von NO im septischen oder hämorrhagischen Schock zu massiven pathologischen Blutdruckabfällen. Übersteigerte NO-Produktion ist an der Entstehung von Typ-1-Diabetes und Atherosklerose beteiligt und scheint auch für die glutamatinduzierte Neurotoxizität nach cerebraler Ischämie verantwortlich zu sein. Hohe NO-Konzentrationen können darüber hinaus durch Desaminierung von Cytosin zu DNA-Schädigungen führen. Beispiele für Erkrankungen, die durch einen Mangel an endogenem NO mittelbar oder unmittelbar hervorgerufen werden, sind arterieller Bluthochdruck, Störungen der Hämostase, koronare Herzkrankheit und die erektile Dysfunktion.

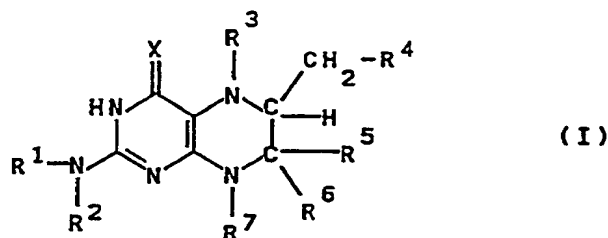
Der Ansatz, eine Modulation der NO-Produktion zur Behandlung dieser Krankheitsbilder zu verwenden, wurde bislang nur mit Hilfe von Arginin-Analoga realisiert (GB-A-2240041; WO-A-93/13055). Als weitere potentielle NO-Synthase-Hemmstoffe werden in der Literatur N-Iminoethylornithin (McCall et al., Br. J. Pharmacol. 102 (1991), 234), Aminoguanidin (T. P. Misko et al., Eur. J. Pharmacol. 233 (1993), 119; EP-A-547588) und 7-Nitroindazol (P. K. Moore et al., Br. J. Pharmacol. 108 (1993), 296) diskutiert.

Verschiedene Pteridin-Derivate kommen in der Natur vor, und auch Verwendungen von Pteridin-Derivaten als Pharma-Wirkstoffe sind beschrieben. So betrifft die EP-B-108 890 den Einsatz von Pteridin-Derivaten zur Behandlung von Krankheiten, die auf einen Katecholamin-Mangel zurückgehen, wie etwa der Parkinson'schen Krankheit, und die Anwendung von Pteridinen zur Behandlung der Phenylketonurie (siehe auch E. C. Bigham et al., Chemistry and Biology of Pteridines (1986), S. 111, Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York); dazu gehören auch bestimmte Verbindungen der allgemeinen Formel I, in der X für Sauerstoff steht und R^1 , R^2 , R^3 und R^7 gleichzeitig für Wasserstoff stehen. Die Wirkung des natürlich vorkommenden 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterins und von Analoga dieser Substanz auf die NO-Produktion wurde z. B. von Kwon et al. (J. Biol. Chem. 264 (1989), 2049) oder Giovanelli et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88 (1991), 7091) untersucht. Danach stimuliert Tetrahydrobiopterin die NO-Produktion und ist ein Cofaktor der NO-Synthasen. Eine Stimulation der NO-Produktion wurde auch für das 7,8-Dihydrobiopterin gefunden. Nach Overfeld et al. (Br. J. Pharmacol. 107 (1992), 1008) kann 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin aber auch hemmend auf die NO-Produktion wirken. Der Effekt ist konzentrationsabhängig.

Über eine Erhöhung der NO-Synthase-Aktivität durch 6-Methyl-5,6,7,8-tetrahydropterin berichten Hevel und Marletta (Biochemistry 31 (1992), 7160). Von Giovanelli et al. (loc. cit.) wurde diese nur bei höheren Konzentrationen beobachtet. Verschiedene andere Pterin-Derivate zeigten in diesen Untersuchungen keine signifikanten Effekte.

Überraschend wurde nun gefunden, daß Pteridin-Derivate der allgemeinen Formel I insbesondere hemmend die endogene NO-Produktion modulieren und somit als Arzneimittel bei Krankheiten geeignet sind, die durch einen überhöhten NO-Spiegel charakterisiert sind.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung von Pteridin-Derivaten der allgemeinen Formel I,



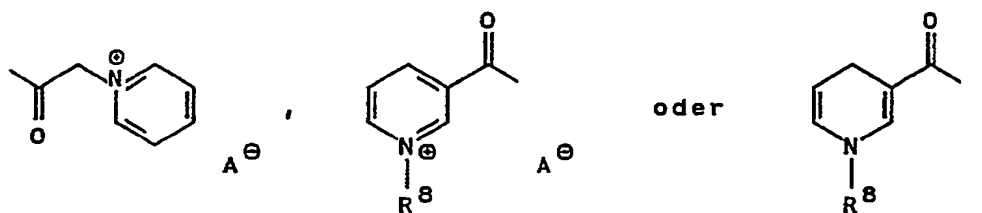
in der

X für O oder NH steht;

R¹ für Wasserstoff, Methyl, (C₁—C₅)-Alkanoyl, Nicotinoyl oder (1-Methyl-3-pyridinio)carbonyl steht;

R² für Wasserstoff oder Methyl steht;

R³ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, Benzyl, (C₁—C₅)-Alkanoyl, Benzoyl, Nicotinoyl, einen der Reste



den Rest R⁹NH—CO—, den Rest R⁹NH—CS— oder Benzyloxycarbonyl steht;

R⁴ für Wasserstoff, (C₁—C₄)-Alkylmercapto, den Rest —S(O)_mR¹⁰, wobei m für die Zahlen 1 oder 2 steht, den Rest —NR¹¹R¹² oder den Rest —OR¹³ steht oder

R³ und R⁴ zusammen für die Gruppierung —CO—O— stehen, wobei deren Carbonyl-C-Atom an die 5-Position des Pteridinmoleküls gebunden ist;

R⁵ und R⁶ unabhängig voneinander für Wasserstoff oder Methyl stehen;

R⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht;

R⁸ für (C₁—C₁₀)-Alkyl oder Benzyl steht;

R⁹ für Wasserstoff, (C₁—C₆)-Alkyl, Cyclohexyl, Phenyl oder Benzoyl steht;

R¹⁰ für Methyl steht;

R¹¹ und R¹² unabhängig voneinander für Wasserstoff oder Methyl stehen;

R¹³ für Wasserstoff, (C₁—C₁₀)-Alkyl, 2-Methoxyethyl, Phenyl, 3-Phenylpropyl, 3-Cyclohexylpropyl, (C₁—C₅)-Alkanoyl, Hydroxyacetyl, unsubstituiertes oder im Alkylteil durch einen Phenylrest substituiertes 2-Amino-(C₂—C₆)-alkanoyl oder ((C₁—C₂)-Alkoxy)carbonyl steht;

A[⊖] für ein pharmakologisch verträgliches Anion steht; und ihrer tautomeren Formen sowie ihrer pharmakologisch verträglichen Salze zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten, die durch einen erhöhten Stickstoffmonoxid-Spiegel bedingt sind.

Alkylgruppen können geradkettig oder verzweigt sein. Dies gilt auch, wenn sie in anderen Gruppen, beispielsweise in Alkoxy-, Alkylmercapto-, Alkoxy-carbonyl- oder Alkanoylgruppen auftreten. Beispiele für Alkylgruppen, die in den erfindungsgemäß zu verwendenden Verbindungen der allgemeinen Formel als solche, also als (C₁—C₄)-, (C₁—C₆)- oder (C₁—C₁₀)-Alkyl, oder in anderen Gruppen auftreten können, sind Methyl, Ethyl, n-Propyl, i-Propyl-, n-Butyl, i-Butyl, sek-Butyl, tert-Butyl, n-Pentyl, 3-Methylbutyl, 2,2-Dimethylpropyl, n-Hexyl, n-Heptyl, n-Octyl, n-Nonyl oder n-Decyl. Beispiele speziell für (C₁—C₅)-Alkanoyl sind Formyl, Acetyl, Propionyl, n-Butyryl, i-Butyryl, n-Valeroyl, 3-Methyl-n-butyryl oder 2,2-Dimethylpropionyl. Beispiele für (C₁—C₂)-Alkoxy sind Methoxy und Ethoxy. Beispiele für unsubstituierte oder im Alkylteil durch einen Phenylrest substituiertes 2-Amino-(C₂—C₆)-alkanoyl sind die entsprechenden Reste der Aminosäuren Glycin, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Norleucin, Norleucin, Phenylglycin oder Phenylalanin.

Beispiele für Säuren der Formel HA, deren Anion in den erfindungsgemäß zu verwendenden Verbindungen der allgemeinen Formel I vorliegen kann, sind Chlorwasserstoff, Bromwasserstoff, Iodwasserstoff, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Salpetersäure, Methansulfonsäure, Toluolsulfonsäure, Essigsäure, Propionsäure, Benzoesäure, Milchsäure, Weinsäure, Citronensäure, Maleinsäure, Fumarsäure. A[⊖] kann aber auch für ein Anion einer anderen unter pharmakologischen und pharmazeutischen Aspekten geeigneten anorganischen oder organischen Säuren stehen und kann, wenn die Verbindung der allgemeinen Formel I in Form eines Säureadditionssalzes vorliegt, mit dem durch diese Salzbildung eingebrachten Anion übereinstimmen oder sich davon unterscheiden.

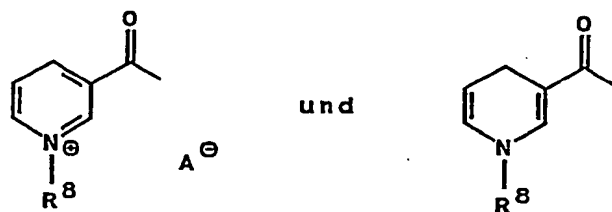
Die Verbindungen der allgemeinen Formel I können in verschiedenen tautomeren Formen und in verschiedenen stereoisomeren Formen vorliegen. Die vorliegende Erfindung umfaßt nicht nur die Verwendung aller tautomeren Formen, sondern auch die aller stereoisomeren Formen, also z. B. die von reinen Enantiomeren, von

Enantiomergemischen und Racematen, von reinen Diastereomeren und Diastereomergemischen oder von cis/trans-Isomeren.

X steht bevorzugt für Sauerstoff.

Bevorzugt stehen R^1 und R^2 gleichzeitig für Wasserstoff oder gleichzeitig für Methyl, oder es steht R^2 für Wasserstoff und gleichzeitig R^1 für (C_1-C_5) -Alkanoyl, insbesondere Acetyl, i-Butyryl oder Pivaloyl, oder für Nicotinoyl oder (1-Methyl-3-pyridinio)carbonyl. Besonders bevorzugt stehen R^1 und R^2 gleichzeitig für Wasserstoff.

R^3 steht bevorzugt für Wasserstoff oder einen Acylrest oder einen (Thio-)Carbamoylrest. Als Acylreste sind (C_1-C_5) -Alkanoyl, insbesondere Formyl, Acetyl und Pivaloyl, sowie Nicotinoyl und die Reste



bevorzugt, wobei R^8 bevorzugt für Methyl, n-Octyl oder Benzyl steht; in den Carbamoylresten $R^9NH-CO-$ steht R^9 bevorzugt für Wasserstoff, (C_1-C_4) -Alkyl, insbesondere tert-Butyl, sowie Cyclohexyl und Phenyl, in den Thiocarbamoylresten $R^9NH-CS-$ steht R^9 bevorzugt für Wasserstoff, (C_1-C_4) -Alkyl, insbesondere Methyl und Ethyl, sowie für Phenyl und Benzoyl. Besonders bevorzugt steht R^3 für Wasserstoff, den Nicotinoylrest oder einen von letzterem durch Alkylierung oder Benzylierung am Nicotinoylstickstoff abgeleiteten 3-Pyridinocarbonylrest oder einen in der 1-Position des Pyridinrings alkylierten oder benzylierten 1,4-Dihydro-3-pyridylcarbonylrest.

R^4 steht bevorzugt für Wasserstoff oder den Rest $-OR^{13}$. Steht R^4 für Wasserstoff, so ist es besonders bevorzugt, wenn R^3 gleichzeitig für einen Acylrest oder einen (Thio-)Carbamoylrest steht.

R^7 steht bevorzugt für Wasserstoff.

R^{13} steht bevorzugt für Wasserstoff, (C_1-C_{10}) -Alkyl oder einen Acylrest, insbesondere (C_1-C_5) -Alkanoyl oder unsubstituiertes oder im Alkylteil durch einen Phenylrest substituiertes 2-Amino- (C_2-C_6) -alkanoyl. Besonders bevorzugt steht R^{13} für (C_1-C_{10}) -Alkyl oder (C_1-C_5) -Alkanoyl, speziell Acetyl. Steht R^{13} für (C_1-C_{10}) -Alkyl, so sind n-Alkylreste sowie i-Propyl, i-Butyl und tert-Butyl bevorzugt.

Bevorzugt erfindungsgemäß zu verwendende Verbindungen der allgemeinen Formel I sind weiterhin diejenigen, in denen R^1 , R^2 , R^3 , R^5 , R^6 und R^7 gleichzeitig für Wasserstoff stehen und R^4 für eine Aminogruppe, eine Methylaminogruppe, eine Dimethylaminogruppe, eine (C_1-C_{10}) -Alkyloxygruppe oder eine Acetoxygruppe steht.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I sind bekannt und können nach oder analog zu bekannten Verfahren hergestellt werden. Bekannte Synthesemethoden für Pteridin-Derivate der allgemeinen Formel I sind z. B. die Methode von Gabriel-Isay oder die Taylor-Methode (siehe z. B. D. J. Brown, Fused Pyrimidines III, Pteridines (E. C. Taylor und A. Weissberger (Ed.), Wiley & Sons, New York)). Im einzelnen ist die Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I z. B. beschrieben in der EP-A-108 890, in der Dissertationsschrift von Hermann Michael Traub (Dissertation der Universität Konstanz, Deutschland (1987)), oder in J. Med. Chem. 30 (1987), 40.

Die erfindungsgemäß zu verwendenden Verbindungen der allgemeinen Formel I können mit anorganischen oder organischen Säuren Salze bilden. Geeignete Säuren für die Bildung pharmakologisch annehmbarer Säureadditionssalze sind beispielsweise: Chlorwasserstoff, Bromwasserstoff, Naphthalindisulfonsäuren, insbesondere Naphthalindisulfonsäure(1,5), Phosphor-, Salpeter-, Schwefel-, Oxal-, Milch-, Wein-, Essig-, Salicyl-, Benzoe-, Ameisen-, Propion-, Pivalin-, Diethylessig-, Malon-, Bernstein-, Pimelin-, Fumar-, Malein-, Apfel-, Sulfamin-, Phenylpropion-, Glucon-, Ascorbin-, Isonicotin-, Methansulfon-, p-Toluolsulfon-, Zitronen- oder Adipinsäure. Die Verbindungen der allgemeinen Formel I können ein oder mehrere, z. B. zwei oder drei, insbesondere zwei, Säureäquivalente addieren. Die Säureadditionssalze können wie üblich durch Vereinigung der Komponenten, zweckmäßigerweise in einem geeigneten Lösungs- oder Verdünnungsmittel, hergestellt werden. Durch Anionenaustausch können Säureadditionssalze ineinander überführt werden. A^\ominus kann ebenso für ein Anion einer der genannten Säuren stehen. Verbindungen der allgemeinen Formel I, die saure Gruppen enthalten, können mit anorganischen oder organischen Basen Salze bilden. Beispielsweise für solche Salze sind z. B. Alkalimetallsalze, insbesondere Natrium- und Kaliumsalze, oder Ammoniumsalze, insbesondere solche mit organischen Resten am Ammoniumstickstoff.

Die Hemmung der NO-Freisetzung durch die Erfindungen der allgemeinen Formel I kann durch einen Aktivitätsassay bestimmt werden, der auf Arbeiten von Bredt und Snyder sowie Schmidt et al. basiert (s. D. S. Bredt und S. S. Snyder, Isolation of nitric oxide synthase, a calmodulin-requiring enzyme, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87 (1990), 682; H. H. H. W. Schmidt et al., Purification of a soluble isoform of guanylyl cyclase-activating factor synthase, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88 (1991), 365). Hierbei wird für gereinigte NO-Synthase (NOS) das bei der NO-Bildung anfallende Coprodukt L-Citrullin quantitativ erfaßt. Dies geschieht durch den Einsatz von 3H -radiomarkiertem L-Arginin als Substrat der Enzymreaktion, das zu 3H -L-Citrullin und NO umgesetzt wird. Nach Beendigung der Enzyminkubation wird entstandenes L-Citrullin von unverbrauchtem L-Arginin mittels Ionenaustauschchromatographie aus dem Reaktionsgemisch entfernt; die durch Flüssigkeitsszintillationsmes-

sung ermittelte ^3H -Aktivität entspricht dann der Menge an L-Citrullin. Einzelheiten der Durchführung sind weiter unten angegeben.

Krankheiten, die durch einen erhöhten NO-Spiegel entstehen und die somit erfindungsgemäß mit den Verbindungen der allgemeinen Formel I behandelt werden können bzw. denen mit diesen vorgebeugt werden kann, sind insbesondere pathologische Blutdruckabfälle, wie sie beim septischen oder hämorrhagischen Schock, bei der Tumor- bzw. Krebstherapie mit Cytokinen oder bei der Leberzirrhose auftreten. Des weiteren entzündliche Erkrankungen, wie rheumatoide Arthritis und insbesondere Colitis ulcerosa, sowie Insulin-abhängiger Diabetes mellitus und Transplantat-Abstoßungsreaktionen.

Aber auch die folgenden Erkrankungen stehen im Zusammenhang mit einer gesteigerten Produktion von Stickstoffmonoxid und können erfindungsgemäß behandelt bzw. vorgebeugt werden. Im Bereich Herz-Kreislauf sind dies Arteriosklerose, postischämische Gewebeschäden und Infarktschäden, Reperfusionsschäden, Myokarditis auf der Grundlage einer Coxsackie-Virus-Infektion und Kardiomyopathie; im Bereich Nervensystem/Zentrales Nervensystem Neuritiden unterschiedlicher Ätiogenese (Neuritisformen), Enzephalomyelitiden, virale neurodegenerative Erkrankungen, Morbus Alzheimer, Hyperalgesie, Epilepsie und Migräne; im Bereich Niere akutes Nierenversagen sowie Nephritiden unterschiedlicher Ätiogenese, speziell Glomerulonephritis.

Außerdem sind auch Behandlungen im Bereich des Magens und des Uterus/der Plazenta sowie eine Beeinflussung der Motilität der Spermien Anwendungsgebiete für die Verbindungen der allgemeinen Formel I.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I und ihre pharmakologisch annehmbaren Salze können als Hilfsstoffe in biochemischen und pharmakologischen Untersuchungen in der Forschung und in Diagnoseverfahren eingesetzt werden, und sie können am Tier, bevorzugt am Säugetier, und insbesondere am Menschen als Heilmittel für sich allein, in Mischungen untereinander oder in Form von pharmazeutischen Zubereitungen verabreicht werden, die eine enterale oder parenterale Anwendung gestatten und die als aktiven Bestandteil eine wirksame Dosis mindestens einer Verbindung der allgemeinen Formel I oder eines Salzes davon, neben üblichen pharmazeutisch einwandfreien Träger- und Zusatzstoffen, enthalten.

Die Heilmittel können oral, z. B. in Form von Pillen, Tabletten, Lacktabletten, Dragees, Hart- und Weichgelatinekapseln, Lösungen, Sirupen, Emulsionen oder Suspensionen oder Aerosolmischungen verabreicht werden. Die Verabreichung kann aber auch rektal, z. B. in Form von Suppositorien, oder parenteral, z. B. in Form von Injektionslösungen oder Infusionslösungen, oder perkutan, z. B. in Form von Salben oder Tinkturen, erfolgen.

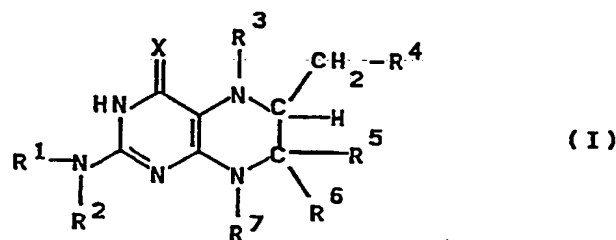
Die pharmazeutischen Präparate können neben den Wirk- und Trägerstoffen noch Zusatzstoffe, wie z. B. Füllstoffe, Streck-, Spreng-, Binde-, Gleit-, Netz-, Stabilisierungs-, Emulgier-, Konservierungs-, Süß-, Färbe-, Geschmacks- oder Aromatisierungs-Mittel, Puffersubstanzen, ferner Lösungsmittel oder Lösungsvermittler oder Mittel zur Erzielung eines Depoteffekts, sowie Salze zur Veränderung des osmotischen Drucks, Überzugsmittel oder Antioxidantien enthalten. Sie können auch zwei oder mehrere Verbindungen der allgemeinen Formel I oder ihrer pharmakologisch annehmbaren Salze und noch andere therapeutisch wirksame Stoffe enthalten.

Derartige andere therapeutisch wirksame Substanzen sind beispielsweise: β -Rezeptorenblocker, wie z. B. Propranolol, Pindolol, Metoprolol; Vasodilatoren, wie z. B. Carbocromen; Beruhigungsmittel, wie z. B. Barbitursäurederivate, 1,4-Benzodiazepine und Meprobamat; Diuretika, wie z. B. Chlorothiazid; das Herz tonisierende Mittel, wie z. B. Digitalispräparate; blutdrucksenkende Mittel, wie z. B. Hydralazin, Dihydralazin, Ramipril, Prazosin, Clonidin, Rauwolfia-Alkaloide; Mittel, die den Fettsäurespiegel im Blut senken, wie z. B. Bezafibrat, Fenofibrat; Mittel für die Thromboseprophylaxe, wie z. B. Phenprocoumon; entzündungshemmende Substanzen, wie etwa Corticosteroide, Salicylate oder Propionsäurederivate, wie beispielsweise Ibuprofen; Antibiotika, wie z. B. Penicilline oder Cephalosporine; NO-Donoren, wie z. B. organische Nitrate oder Sydnominine oder Furoxane.

Die Dosierung kann innerhalb weiter Grenzen variieren und ist in jedem einzelnen Fall den individuellen Gegebenheiten anzupassen. Im allgemeinen ist bei oraler Verabreichung pro menschlichem Individuum eine Tagesdosis von etwa 0,5 bis 100 mg, vorzugsweise 1 bis 20 mg, angemessen. Auch bei anderen Applikationsformen liegt die Tagesdosis, in ähnlichen Mengenbereichen, d. h. im allgemeinen ebenfalls bei 0,5 bis 100 mg/Mensch. Die Tagesdosis kann in mehrere, z. B. 2 bis 4, Teilverabreichungen aufgeteilt werden.

Zur Herstellung der pharmazeutischen Präparate können pharmazeutisch inerte anorganische oder organische Trägerstoffe verwendet werden. Für die Herstellung von Pillen, Tabletten, Dragees und Hartgelatinekapseln kann man z. B. Lactose, Maisstärke oder Derivate davon, Talk, Stearinsäure oder deren Salze etc. verwenden. Trägerstoffe für Weichgelatinekapseln und Suppositorien sind z. B. Fette, Wachse, halbfeste und flüssige Polyole, natürliche oder gehärtete Öle etc. Als Trägerstoffe für die Herstellung von Lösungen und Sirupen eignen sich z. B. Wasser, Saccharose, Invertzucker, Glukose, Polyole etc. Als Trägerstoffe für die Herstellung von Injektionslösungen eignen sich z. B. Wasser, Alkohole, Glycerin, Polyole oder pflanzliche Öle.

Für verschiedene Pteridin-Derivate der allgemeinen Formel I sind bisher keine pharmakologischen Wirkungen oder medizinischen Verwendungen bekannt gewesen. Für solche Verbindungen gibt die vorliegende Erfindung die erste medizinische Indikation an. Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind auch Pteridin-Derivaten allgemeinen Formel I,



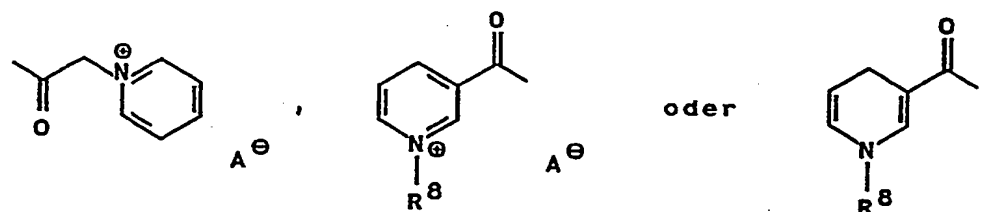
in der

X für O oder NH steht;

R¹ für Wasserstoff, Methyl, (C₁ – C₅)-Alkanoyl, Nicotinoyl oder (1-Methyl-3-pyridinio)carbonyl steht;

R² für Wasserstoff oder Methyl steht;

R³ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, Benzyl, (C₁ – C₅)-Alkanoyl, Benzoyl, Nicotinoyl, einen der Reste



den Rest R NH – CO –, den Rest R⁹ NH – CS – oder Benzyloxycarbonyl steht;

R⁴ für Wasserstoff, (C₁ – C₄)-Alkylmercapto, den Rest –S(O)_mR¹⁰, wobei m für die Zahlen 1 oder 2 steht, den Rest –NR¹¹R¹² oder den Rest –OR¹³ steht oder

R³ und R⁴ zusammen für die Gruppierung –CO–O– stehen, wobei deren Carbonyl-C-Atom an die 5-Position des Pteridinmoleküls gebunden ist;

R⁵ und R⁶ unabhängig voneinander für Wasserstoff oder Methyl stehen;

R⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht;

R⁸ für (C₁ – C₁₀)-Alkyl oder Benzyl steht;

R⁹ für Wasserstoff, (C₁ – C₆)-Alkyl, Cyclohexyl, Phenyl oder Benzoyl steht;

R¹⁰ für Methyl steht;

R¹¹ und R¹² unabhängig voneinander für Wasserstoff oder Methyl stehen;

R¹³ für Wasserstoff, (C₁ – C₁₀)-Alkyl, 2-Methoxyethyl, Phenyl, 3-Phenylpropyl, 3-Cyclohexylpropyl, (C₁ – C₅)-Alkanoyl, Hydroxyacetyl, unsubstituiertes oder im Alkylteil durch einen Phenylrest substituiertes 2-Amino-(C₂ – C₆)-alkanoyl oder ((C₁ – C₂)-Alkoxy)carbonyl steht;

A[⊖] für ein pharmakologisch verträgliches Anion steht; und ihrer tautomeren Formen sowie ihrer pharmakologisch verträglichen Salze, wobei aber, wenn X für Sauerstoff steht, mindestens einer der Substituenten R¹, R², R³ und R⁷ eine andere Bedeutung als Wasserstoff hat, als pharmakologische Wirkstoffe. Für bevorzugte solche Pteridin-Derivate gilt das oben Gesagte entsprechend.

Die folgenden Beispiele geben Verbindungen der allgemeinen Formel I an, die erfindungsgemäß eingesetzt werden können. In der Rubrik "Salz" ist angegeben, welche Säuremenge und welche Menge Kristallwasser gegebenenfalls pro Mol in den Pteridin-Derivaten der allgemeinen Formel I vorlagen. In den Beispielen werden folgende Abkürzungen verwendet:

Me = Methyl

Et = Ethyl

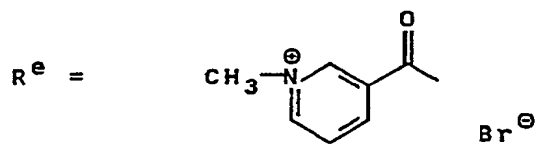
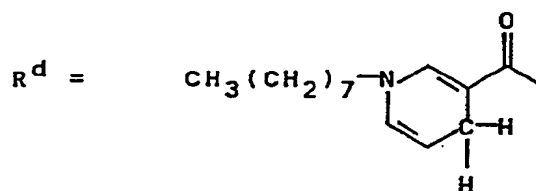
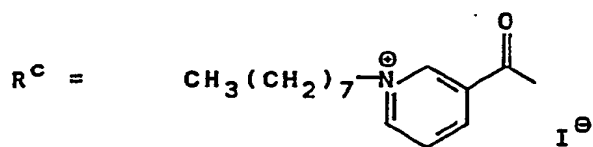
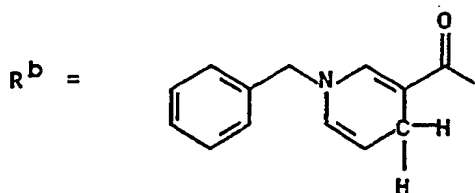
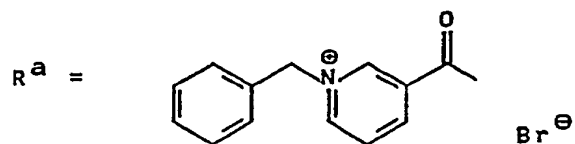
iPr = Isopropyl

iBu = Isobutyl

tBu = tert-Butyl

Ph = Phenyl

Py = 3-Pyridyl



Beispiel 1

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = H.$

Beispiel 2

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = Me,$
 $R^3 = H, R^4 = H.$

Beispiel 3

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = Me,$
 $R^3 = CHO, R^4 = H.$

Beispiel 4

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = H, R^7 = Me,$

$R^3 = \text{CHO}, R^4 = \text{H}.$

Beispiel 5

- 5 $X = \text{O}, R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^5 = \text{Me}, R^6 = \text{H}, R^7 = \text{H},$
 $R^3 = \text{CONH}_2, R^4 = \text{H},$
 Salz: $0,5\text{H}_2\text{O}$, Schmp. $257^\circ\text{C}.$

Beispiel 6

- 10 $X = \text{O}, R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^5 = \text{Me}, R^6 = \text{H}, R^7 = \text{H},$
 $R^3 = \text{CSNHMe}, R^4 = \text{H},$
 Salz: $1,5\text{H}_2\text{O}$, Schmp. $195^\circ\text{C}.$

Beispiel 7

- 15 $X = \text{O}, R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^5 = \text{Me}, R^6 = \text{H}, R^7 = \text{H},$
 $R^3 = \text{CSNHPh}, R^4 = \text{H},$
 Salz: $2\text{H}_2\text{O}$, Schmp. $239^\circ\text{C}.$

Beispiel 8

- 20 $X = \text{O}, R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^5 = \text{Me}, R^6 = \text{H}, R^7 = \text{H},$
 $R^3 = \text{CSNHtEt}, R^4 = \text{H},$
 25 Salz: $2\text{H}_2\text{O}$ Schmp. $202^\circ\text{C}.$

Beispiel 9

- 30 $X = \text{O}, R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^5 = \text{Me}, R^6 = \text{H}, R^7 = \text{H},$
 $R^3 = \text{CSNHCOPh}, R^4 = \text{H},$
 Salz: $0,5 \text{H}_2\text{O}$, Schmp. $229^\circ\text{C}.$

Beispiel 10

- 35 $X = \text{O}, R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^5 = \text{Me}, R^6 = \text{H}, R^7 = \text{H},$
 $R^3 = \text{CONHPh}, R^4 = \text{H},$
 Salz: $1\text{H}_2\text{O}$, Schmp. 197°C (Zers.).

Beispiel 11

- 40 $X = \text{O}, R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^5 = \text{Me}, R^6 = \text{H}, R^7 = \text{H},$
 $R^3 = \text{CONHtBu}, R^4 = \text{H},$
 Salz: $1\text{H}_2\text{O}$, Schmp. 260°C (Zers.).

Beispiel 12

- 45 $X = \text{O}, R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^5 = \text{Me}, R^6 = \text{H}, R^7 = \text{H},$
 $R^3 = \text{CONH-Cyclohexyl}, R^4 = \text{H},$
 Salz: $1\text{H}_2\text{O}$, Schmp. $242^\circ\text{C}.$

Beispiel 13

- 50 $X = \text{O}, R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^5 = \text{Me}, R^6 = \text{H}, R^7 = \text{H},$
 $R^3 = \text{COPh}, R^4 = \text{H},$
 55 Schmp. $> 320^\circ\text{C}.$

Beispiel 14

- 60 $X = \text{O}, R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^5 = \text{Me}, R^6 = \text{H}, R^7 = \text{H},$
 $R^3 = \text{COPy}, R^4 = \text{H},$
 Schmp. $295^\circ\text{C}.$

Beispiel 15

- 65 $X = \text{O}, R^1 = \text{H}, R^2 = \text{H}, R^5 = \text{Me}, R^6 = \text{H}, R^7 = \text{H},$
 $R^3 = \text{COR}^a, R^4 = \text{H},$
 Salz: $0,5\text{H}_2\text{O}$, Schmp. $275^\circ\text{C}.$

Beispiel 16

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = COR^b, R^4 = H,$
 Schmp. 255°C.

5

Beispiel 17

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = COR^b, R^4 = H,$
 Salz: 1H₂O, Schmp. 232°C.

10

Beispiel 18

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = COR^c, R^4 = H,$
 Salz: 0,5H₂O, Schmp. 180°C.

15

Beispiel 19

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = COPy, R^4 = H,$
 Salz: 1H₂O, Schmp. 265—270°C.

20

Beispiel 20

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = COR^c, R^4 = H,$
 Schmp. 206—208°C.

25

Beispiel 21

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = COR^d, R^4 = H,$
 Schmp. > 200°C (Zers.).

30

35

Beispiel 22

$X = O, R^1 = COiPr, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = H,$
 $R^7 = H, R^3 = COPy, R^4 = H,$
 Schmp. > 300°C.

40

Beispiel 23

$X = O, R^1 = COPy, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = H,$
 $R^7 = H, R^3 = COPy, R^4 = H,$
 Schmp. 325°C.

45

Beispiel 24

$X = O, R^1 = Me, R^2 = Me, R^5 = Me, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = H,$
 Salz: 2HCl, Schmp. > 300°C.

50

Beispiel 25

$X = O, R^1 = Me, R^2 = Me, R^5 = Me, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = COPy, R^4 = H,$
 Schmp. 315°C (Zers.).

55

Beispiel 26

$X = O, R^1 = Me, R^2 = Me, R^5 = Me, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = COR^e, R^4 = H,$
 Schmp. 238—240°C.

60

65

Beispiel 27

$X = O, R^1 = Me, R^2 = Me, R^5 = Me, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = COR^4, R^4 = H,$

5 Salz: $0,5H_2O$ Schmp. $271^\circ C$.

Beispiel 28

$X = O, R^1 = COR^6, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = H,$
 $R^7 = H, R^3 = COR^4, R^4 = H,$
 Schmp. $250^\circ C$ (Zers.).

10

Beispiel 29

$X = O, R^1 = COiPr, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = H,$
 $R^7 = H, R^3 = COR^4, R^4 = H,$
 Salz: $0,5 H_2O$, Schmp. $251^\circ C$.

15

Beispiel 30

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OH,$ Salz: $2HCl + 0,5H_2O$, Schmp. $238-240^\circ C$ (Zers.).

20

Beispiel 31

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = CPh, R^4 = OH,$
 Schmp. $246^\circ C$ (Zers.).

25

Beispiel 32

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = Me,$
 $R^3 = H, R^4 = OH.$

30

Beispiel 33

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = Me,$
 $R^3 = CHO, R^4 = OH.$

35

Beispiel 34

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = Me,$
 $R^3 = COMe, R^4 = OH.$

40

Beispiel 35

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OMe,$
 Salz: $2HCl$, Schmp. $170^\circ C$ (Zers.).

45

Beispiel 36

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OEt,$

50

55 Salz: $2HCl$, Schmp. $165^\circ C$ (Zers.).

Beispiel 37

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OiPr,$
 Salz: $2HCl$, Schmp. $219-221^\circ C$ (Zers.).

60

Beispiel 38

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OiBu,$
 Salz: $2HCl + 0,5H_2O$, Schmp. $232-234^\circ C$ (Zers.).

65

Beispiel 39

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = O\text{-}n\text{-Butyl}.$

5

Beispiel 40

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = O\text{-}t\text{Bu}.$

10

Beispiel 41

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = O\text{-}n\text{-Pentyl}.$

15

Beispiel 42

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = O\text{-}n\text{-Octyl}.$

20

Beispiel 43

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = O\text{-}n\text{-Decyl},$
 Salz: 2HCl Schmp. 180°C.

25

Beispiel 44

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OCH_2CH_2OMe,$
 Salz: 2HCl, Schmp. 221—222°C.

30

Beispiel 45

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OPh,$
 Salz: 2HCl + 0,25H₂O, Schmp. 254—256°C (Zers.).

35

Beispiel 46

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = Me, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OH.$

40

Beispiel 47

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = Me, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OMe.$

45

Beispiel 48

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = Me, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OEt.$

50

Beispiel 49

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = Me, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = O\text{-}n\text{-Propyl}.$

55

Beispiel 50

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = Me, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OiPr.$

60

Beispiel 51

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = Me, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = O\text{-}n\text{-Pentyl}.$

65

Beispiel 52

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = Me, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = O-n-Octyl.$

Beispiel 53

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = Me, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = O-CH_2CH_2CH(CH_3)_2.$

Beispiel 54

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = Me, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = O-(CH_2)_3Ph.$

Beispiel 55

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = Me, R^6 = Me, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = O-(CH_2)_3-Cyclohexyl.$

Beispiel 56

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = Me,$
 $R^3 = CHO, R^4 = OCHO.$

Beispiel 57

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OCOMe,$

Salz: $H_2SO_4 + 0,25H_2O$, Schmp. $230-232^\circ C$.

Beispiel 58

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = Me,$
 $R^3 = COMe, R^4 = OCOMe.$

Beispiel 59

$X = O, R^1 = COMe, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H,$
 $R^7 = H, R^3 = CH_2Ph, R^4 = OCOMe.$

Beispiel 60

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OCOCH_2OH,$

Salz: H_2SO_4 , Schmp. $220^\circ C$ (Zers.).

Beispiel 61

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = COtBu, R^4 = OCOtBu.$

Beispiel 62

$X = O, R^1 = COtBu, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H,$
 $R^7 = H, R^3 = COOCH_2Ph, R^4 = OCOtBu.$

Beispiel 63

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OCOOEt,$

Salz: H_2SO_4 , Schmp. $214^\circ C$.

Beispiel 64

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OCOCH(Me)(NH_2)(L),$

Salz: $1,5H_2SO_4 + 0,25H_2O$, Schmp. $214^\circ C$ (Zers.).

Beispiel 65

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OCOCH(iPr)(NH_2)(L),$
 Salz: $1,5H_2SO_4 + H_2O$, Schmp. $190^\circ C$ (Zers.).

5

Beispiel 66

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OCOCH(CH_2Ph)(NH_2)(DL),$
 Salz: $2HCl + 0,5H_2O$, Schmp. $205^\circ C$ (Zers.).

10

Beispiel 67

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = Et, R^4 = SMe,$
 Salz: $2HCl + 2/3H_2O$, Schmp. $195-196^\circ C$ (Zers.).

15

Beispiel 68

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = S(O)_2Me,$
 Salz: $2HCl$, Schmp. $252-253^\circ C$.

20

Beispiel 69

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = NH_2,$
 Salz: $3HCl$, Schmp. $264-265^\circ C$ (Zers.).

25

Beispiel 70

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = NHMe,$
 Salz: $3HCl$, Schmp. $273-274^\circ C$ (Zers.).

30

Beispiel 71

$X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = NMe_2,$
 Salz: $3HCl + 0,5H_2O$, Schmp. $224-225^\circ C$.

35

Beispiel 72

$X = NH, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OH.$

45

Beispiel 73

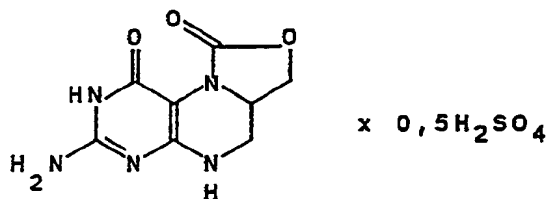
$X = NH, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = OEt,$
 Salz: $3HCl$, Schmp. $130^\circ C$ (Zers.).

50

Beispiel 74

Verbindung der Formel

55



60

65

Schmp. > 350°C.

Beispiel 75

- 5 $X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = SEt.$

Beispiel 76

- 10 $X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = S-n-Propyl.$

Beispiel 77

- 15 $X = O, R^1 = H, R^2 = H, R^5 = H, R^6 = H, R^7 = H,$
 $R^3 = H, R^4 = S-n-Butyl.$

Messung der Hemmung der Aktivität gereinigter Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS)

- 20 Bei diesem Aktivitätsassay wird das bei der Bildung von NO durch gereinigte NOS anfallende Koprodukt L-Citrullin quantitativ erfaßt. Als Substrat der Enzymreaktion wird 3H -radiomarkiertes L-Arginin eingesetzt, das zu 3H -L-Citrullin und NO umgesetzt wird. Nach Beendigung der Enzyminkubation wird entstandenes L-Citrullin von unverbrauchtem L-Arginin mittels Ionenaustauschchromatographie aus dem Reaktionsgemisch entfernt; die durch Flüssigkeitszzintillation gemessene 3H -Aktivität entspricht dann der Menge an L-Citrullin,
 25 die ein direktes Maß für die Aktivität der NOS ist.

Das Grundmedium für die Durchführung der Enzymreaktion ist TE-Puffer (Triethanolamin, EDTA, pH 7,0). Das Endvolumen jeder Inkubation beträgt 100 µl. Das Reaktionsgemisch wird erhalten, indem die folgenden 6 Komponenten auf Eis gemischt werden:

- 30 1. "REA-Mix" (pH 7,0), der Triethanolamin, Calciumchlorid, Magnesiumchlorid, EDTA, L-Arginin, Calmodulin und Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD) enthält;
 2. frisch zubereitete Stammlösung von β -Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat, reduzierte Form (NADPH);
 3. (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-Biopterin-Dihydrochlorid-Stammlösung (BH_4) oder — für Versuche ohne BH_4
 35 — statt dessen TE-Puffer;
 4. gereinigte NO-Synthase aus Schweinekleinhirn oder aus Schweineleber;
 5. L-[2,3,4,5- 3H]-Arginin-Hydrochlorid-Stammlösung (1,5-2,6 TBq/mmol);
 6. zu testende Substanz.

- 40 Die finalen Konzentrationen der Komponenten im Inkubationsvolumen von 100 µl sind:
 Triethanolamin 50 mM, EDTA 0,5 mM, $CaCl_2$ 226 µM, $MgCl_2$ 477 µM, L-Arginin 50 µM, Calmodulin 0,5 µM, FAD 5 µM, NADPH 1 mM, BH_4 (wenn zugesetzt) 2 µM, zu testende Substanz 100 µM. Nach dem Mischen der Komponenten auf Eis wird der Reaktionsansatz sofort in einem Wasserbad bei 37°C für 15 Minuten inkubiert. Nach dieser Inkubationszeit wird die Reaktion durch Zugabe von 900 µl eiskaltem "Stoppuffer" (20 mM Natriumacetat, 2 mM EDTA, pH 5,5) abgestoppt und der Ansatz (Gesamtvolumen jetzt 1,0 ml) auf Eis gestellt. Zur
 45 Abtrennung des nicht umgesetzten 3H -L-Arginins wird das Gemisch auf eine Ionenaustauschersäule mit 0,8 ml Dowex AG 50 WX-8 (100—200 mesh) gegeben, die zuvor mit 2 ml Stoppuffer gespült und äquilibriert wurde. Nach dem Auftragen der Probe wird die Säule zweimal mit je 1 ml Wasser eluiert. Der Durchlauf der Probe und das Eluat werden in Szintillationsgefäßen aufgefangen und gereinigt (Gesamtvolumen 3 ml). Zu den 3 ml wäßriger Meßlösung werden 9 ml Szintillator-Lösung gegeben und die homogene Mischung wird in einem Flüssigszintillationszähler Tricarb 2500 TR (Packard) 1 Minute pro Probe gemessen. Die mit der zu testenden Substanz gefundene Aktivität wird in Prozent der Aktivität der Kontrolle angegeben. Jede Substanz wird in einer Konzentration von 100 µM in Anwesenheit von 2 µM Tetrahydrobiopterin auf antagonistische Wirkung
 50 sowie in Abwesenheit von Tetrahydrobiopterin auf agonistische Wirkung auf die NOS getestet. Alle Inkubationen werden in Triplikaten angesetzt. Jeder Versuch wird dreimal mit verschiedenen Enzympräparationen wiederholt. Einige Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle angegeben.

60

65

Verbindung des Beispiels	Enzym aus	Citrullin-Bildung (% der Kontrolle)
-----------------------------	-----------	--

57	Schweinehirn	66,3	5
69	Schweinehirn	52,3	
70	Schweinehirn	42,5	10
71	Schweinehirn	46,2	
74	Schweinehirn	42,6	15

Die nachfolgenden Beispiele betreffen pharmazeutische Zubereitungsformen.

Beispiel A

Gelatineweichkapseln, enthaltend 100 mg Wirkstoff pro Kapsel:

	pro Kapsel	
Wirkstoff	100 mg	25
aus Kokosfett fraktioniertes Triclycerid-Gemisch	400 mg	
Kapselinhalt	500 mg	30

Beispiel B

Injektionslösung, enthaltend 2,0 mg Wirkstoff pro ml:

	pro ml	
Wirkstoff	2,0 mg	40
Polyethylenglycol 400	5,0 mg	
Natriumchlorid	2,7 mg	
Wasser zu Injektionszwecken	ad 1 ml	45

Beispiel C

Emulsion, enthaltend 60 mg Wirkstoff pro 5 ml:

	pro 100 ml Emulsion	
Wirkstoff	1,2 g	
Neutralöl	q.s.	55
Natriumcarboxymethylcellulose	0,6 g	
Polyoxyethylen-stearat	q.s.	
Glycerin rein	0,2 bis 2,0 g	60
Geschmacksstoff	q.s.	
Wasser (entsalzt oder destilliert)	ad 100 ml	65

Beispiel D

Rektale Arzneiform, enthaltend 40 mg Wirkstoff pro Suppositorium:

Wirkstoff
 5 Suppositoriengrundmasse

pro Suppositorium

40 mg
 ad 2 g

Beispiel E

10 Tabletten, enthaltend 40 mg Wirkstoff pro Tablette:

15 Wirkstoff

pro Tablette

40 mg

Lactose

600 mg

Maisstärke

300 mg

20 lösliche Stärke

20 mg

Magnesiumstearat

40 mg

1000 mg

Beispiel F

Dragees, enthaltend 50 mg Wirkstoff pro Dragee:

30 Wirkstoff

pro Dragee

50 mg

Maisstärke

100 mg

35 Lactose

60 mg

sec. Calciumphosphat

30 mg

40 lösliche Stärke

5 mg

Magnesiumstearat

10 mg

kolloidale Kieselsäure

5 mg

260 mg

Beispiel G

50 Für die Herstellung des Inhalts von Hartgelatine kapseln eignen sich die folgenden Rezepturen:

a) Wirkstoff

100 mg

55 Maisstärke

300 mg

400 mg

b) Wirkstoff

140 mg

60 Milchzucker

180 mg

Maisstärke

180 mg

500 mg

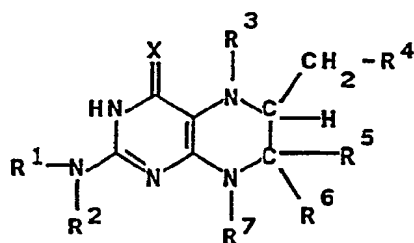
Beispiel H

Tropfen können nach folgender Rezeptur hergestellt werden (100 mg Wirkstoff in 1 ml = 20 Tropfen):

Wirkstoff	10 g	5
Benzoessäuremethylester	0,07 g	
Benzoessäureethylester	0,03 g	
Ethanol 96 %ig	5 ml	10
entmineralisiertes Wasser	ad 100 ml	

Patentansprüche

1. Verwendung von Pteridin-Derivaten der allgemeinen Formel I,



(I)

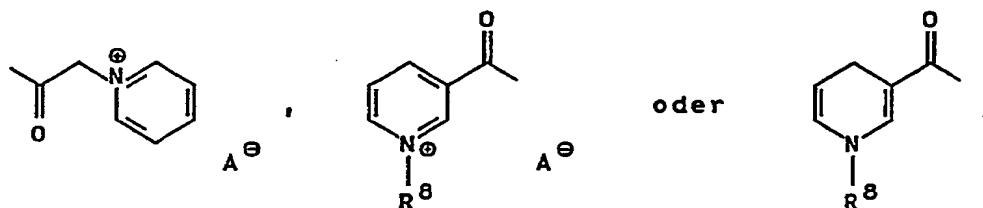
in der

X für O oder NH steht;

R¹ für Wasserstoff, Methyl, (C₁—C₅)-Alkanoyl, Nicotinoyl oder (1-Methyl-3-pyridinio)carbonyl steht;

R² für Wasserstoff oder Methyl steht;

R³ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, Benzyl, (C₁—C₅)-Alkanoyl, Benzoyl, Nicotinoyl, einen der Reste



den Rest R⁹NH—CO—, den Rest R⁹NH—CS— oder Benzyloxycarbonyl steht;

R⁴ für Wasserstoff, (C₁—C₄)-Alkylmercapto, den Rest —S(O)_mR¹⁰, wobei m für die Zahlen 1 oder 2 steht,

den Rest —NR¹¹R¹² oder den Rest —OR¹³ steht oder

R³ und R⁴ zusammen für die Gruppierung —CO—O— stehen, wobei deren Carbonyl-C-Atom an die 5-Position des Pteridinmoleküls gebunden ist;

R⁵ und R⁶ unabhängig voneinander für Wasserstoff oder Methyl stehen;

R⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht;

R⁸ für (C₁—C₁₀)-Alkyl oder Benzyl steht;

R⁹ für Wasserstoff, (C₁—C₆)-Alkyl, Cyclohexyl, Phenyl oder Benzoyl steht;

R¹⁰ für Methyl steht;

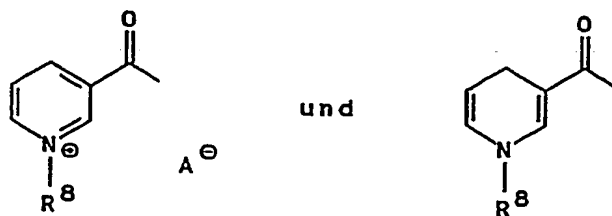
R¹¹ und R¹² unabhängig voneinander für Wasserstoff oder Methyl stehen;

R¹³ für Wasserstoff, (C₁—C₁₀)-Alkyl, 2-Methoxyethyl, Phenyl, 3-Phenylpropyl, 3-Cyclohexylpropyl, (C₁—C₅)-Alkanoyl, Hydroxyacetyl, unsubstituiertes oder im Alkylteil durch einen Phenylrest substituiertes

2-Amino-(C₂—C₆)-alkanoyl oder ((C₁—C₂)-Alkoxy)carbonyl steht; A⁺ für ein pharmakologisch verträgliches Anion steht; und ihrer tautomeren Formen sowie ihrer pharmakologisch verträglichen Salze zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten, die durch einen erhöhten Stickstoffmonoxid-Spiegel bedingt sind.

2. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß X für Sauerstoff steht.

3. Verwendung gemäß Anspruch 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß R³ für Wasserstoff, (C₁—C₅)-Alkanoyl, Nicotinoyl, einen der Reste



oder für $R^9NH-CO-$ oder $R^9NH-CS-$ steht.

4. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß R^4 für Wasserstoff oder den Rest $-OR^{13}$ steht, wobei bevorzugt R^{13} für (C_1-C_{10}) -Alkyl oder (C_1-C_5) -Alkanoyl steht.

5. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung pathologischer Blutdruckabfälle, insbesondere beim septischen Schock und der Krebstherapie mit Cytokinen.

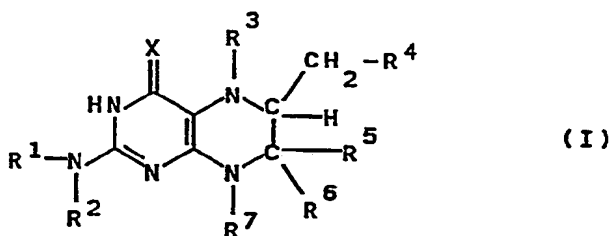
6. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung von entzündlichen Erkrankungen, insbesondere Colitis ulcerosa.

7. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung von Infarktschäden und/oder Reperfusionsschäden.

8. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung von Transplantat-Abstoßungsreaktionen.

9. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung von Erkrankungen des Nervensystems aus der Reihe Morbus Alzheimer, Epilepsie und Migräne.

10. Pteridin-Derivate der allgemeinen Formel I,



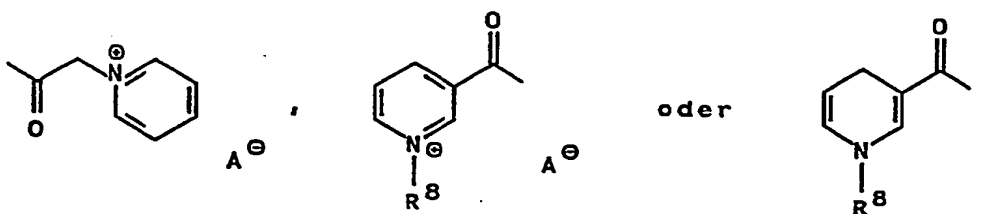
in der

X für O oder NH steht;

R^1 für Wasserstoff, Methyl, (C_1-C_5) -Alkanoyl, Nicotinoyl oder (1-Methyl-3-pyridinio)carbonyl steht;

R^2 für Wasserstoff oder Methyl steht;

R^3 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, Benzyl, (C_1-C_5) -Alkanoyl, Benzoyl, Nicotinoyl, einen der Reste



den Rest $R^9NH-CO-$, den Rest $R^9NH-CS-$ oder Benzyloxycarbonyl steht;

R^4 für Wasserstoff, (C_1-C_4) -Alkylmercapto, den Rest $-S(O)_mR^{10}$, wobei m für die Zahlen 1 oder 2 steht, den Rest $-NR^{11}R^{12}$ oder den Rest $-OR^{13}$ steht oder

R^3 und R^4 zusammen für die Gruppierung $-CO-O-$ stehen, wobei deren Carbonyl-C-Atom an die 5-Position des Pteridinmoleküls gebunden ist;

R^5 und R^6 unabhängig voneinander für Wasserstoff oder Methyl stehen;

R^7 für Wasserstoff oder Methyl steht;

R^8 für (C_1-C_{10}) -Alkyl oder Benzyl steht;

R^9 für Wasserstoff, (C_1-C_6) -Alkyl, Cyclohexyl, Phenyl oder Benzoyl steht;

R^{10} für Methyl steht;

R^{11} und R^{12} unabhängig voneinander für Wasserstoff oder Methyl stehen;

R^{13} für Wasserstoff, (C_1-C_{10}) -Alkyl, 2-Methoxyethyl, Phenyl, 3-Phenylpropyl, 3-Cyclohexylpropyl, (C_1-C_5) -Alkanoyl, Hydroxyacetyl, unsubstituiertes oder im Alkylteil durch einen Phenylrest substituiertes 2-Amino- (C_2-C_6) -alkanoyl oder $((C_1-C_2)$ -Alkoxy)carbonyl steht;

A[⊖] für ein pharmakologisch verträgliches Anion steht;
und ihrer tautomeren Formen sowie ihrer pharmakologisch verträglichen Salze, wobei aber, wenn X für Sauerstoff steht, mindestens einer der Substituenten R¹, R², R³ und R⁷ eine andere Bedeutung als Wasserstoff hat, als pharmakologische Wirkstoffe.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -